

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**MICHEL MICHELS DE OLIVEIRA**

**TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA  
HEMOGLOBINÚRIA PAROXISTICA NOTURNA: EXPERIÊNCIA DO  
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**CURITIBA**

**2011**

**MICHEL MICHELS DE OLIVEIRA**

**TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA  
HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA: EXPERIÊNCIA DO  
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de Mestre no Curso de  
Pós-Graduação em Medicina Interna do  
Departamento de Clínica Médica, Setor de  
Ciências da Saúde, Universidade Federal do  
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Zanis Neto

**CURITIBA**

**2011**

Dedico a minha esposa Débora pelo apoio  
permanente e estímulo infinito.

## **AGRADECIMENTOS**

Neste momento nunca conseguimos recordar de todos os nomes que em algum momento contribuíram com conhecimento e apoio; a todos vocês muito obrigado.

A Débora minha esposa, com sua paciência.

Às minhas filhas Julia e Luiza pelo sorriso sincero nos momentos de cansaço.

A todos os meus familiares, principalmente meus pais e irmãos, pelo incondicional apoio em todas as horas em que solicitados.

Ao Professor Dr. José Zanis Neto pelo seu apoio e exemplo de interesse científico e aprimoramento contínuo na hematologia e transplante de medula óssea, além do estímulo para a permanência na vida acadêmica.

Ao Professor Dr. Ricardo Pasquini, Professora Dra. Mariester Malvezzi e Professor Dr. Carlos Roberto de Medeiros, que sempre ensinaram hematologia com o maior rigor científico.

Ao Dr. Eurípides Ferreira, exemplo de dedicação no cuidado do paciente.

A todos os professores, médicos, colegas e residentes com quem aprendi a exercer a clínica médica, hematologia e transplante de medula óssea desde o início da minha formação acadêmica no Hospital de Clínicas.

Aos funcionários do ambulatório de transplante de medula óssea.

A todos os pacientes que participaram deste estudo.



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
2.1 HISTÓRIA E ORIGEM .....	2
2.2 EPIDEMIOLOGIA .....	3
2.3 FISIOPATOLOGIA.....	3
2.4 DIAGNÓSTICO.....	65
2.5 ASPECTOS CLÍNICOS .....	7..7
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>11.</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
4.1 DELINEAMENTO .....	12
4.2 CASUÍSTICA .....	12
4.3 DADOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E SEGUIMENTO .....	13
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	17
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
5.1 PEGA DO ENXERTO .....	18
5.2 SOBREVIDA.....	20
5.3 COMPLICAÇÕES RELACIONADAS AO TMO .....	20
5.4 INFECÇÕES BACTERIANAS .....	19
5.5 INFECÇÕES VIRAIS.....	20.
5.6 INFECÇÕES FÚNGICAS.....	21
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>24</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>QUADRO 01:</b> ILUSTRAÇÃO DO LIVRO <i>DE URINIS</i> .....	2.07
--	------

<b>Figura 01:</b> LOCALIZAÇÃO DO GENE PIG- A NO CROMOSSOMO X.....	4
---	---

<b>FIGURA 02:</b> ESQUEMA DA ESTRUTURA DA ANCORA GLICOSIL FOSFATIDIL INOSITOL .....	5.
---	----

<b>FIGURA 03:</b> ESQUEMA DA ESTRUTURA DA CASCATA DO COMPLEMENTO.....	6.0
---	-----

<b>FIGURA 04:</b> RELAÇÃO ENTRE HPN, ANEMIA APLÁSTICA E MIELODISPLASIA .....	19
--	----

<b>FIGURA 05:</b> SOBREVIDA ATUARIAL - DO DIAGNÓSTICO EM 14 PACIENTES COM HPN .....	11
---	----

<b>FIGURA 06:</b> SOBREVIDA GLOBAL PELO MÉTODO DE KAPLAN-MEIER EM 5 ANOS .....	20
--	----

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 01:** CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES ..... 4

**TABELA 02:** CARACTERÍSTICAS DOS TRANSPLANTES..... 6



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AAS – anemia aplástica severa

CEP - comitê de ética em pesquisa

CD 55 – cluster of differentiation 55

CD 59 - cluster of differentiation 59

CIBMTR – Center for International Blood and Marrow Transplant Research

DECH – doença do enxerto contra o hospedeiro

HLA – antígeno leucocitário humano

HPN – hemoglobinúria paroxística noturna

LDH – desidrogenase láctica

LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

NIH - National Institutes of Health

PIG-A – glicosil fosfatidil inositol A

SMD - síndrome mielodisplásica

TCLE - termo de consentimento livre e esclarecido

TMO – transplante de medula óssea

UFPR - Universidade Federal do Paraná

## RESUMO

**Objetivos:** Descrever a experiência do serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Curitiba no tratamento da hemoglobinúria paroxística noturna. **Metodologia:** Estudo retrospectivo com 14 pacientes com diagnóstico de HPN no período de 1988 a 2005. **Resultados:** Idade mediana de 28 anos, intervalo mediano entre o diagnóstico e o TMO de 29,5 meses. Principal condicionamento utilizado foi baseado em bussulfan e ciclofosfamida. A imunoprofilaxia foi predominantemente realizada com ciclosporina e metotrexato. Sobrevida global em 5 anos de 70%. **Conclusão:** As últimas décadas foram de grande avanço no diagnóstico e manejo da HPN; o esclarecimento dos mecanismos fisiopatológicos, além da melhoria das condições de suporte ao paciente transplantado de medula óssea propiciaram um aumento na sobrevida destes pacientes. Este estudo não demonstrou diferenças nas características clínicas e sobrevida quando comparado a outras instituições internacionais. Esta é uma das maiores séries descritas neste cenário em centro único. Apesar desses resultados considerados muito bons, vários obstáculos ainda necessitam ser transpostos.

**Palavras-chave:** hemoglobinúria paroxística noturna, HPN, transplante de medula óssea

## ABSTRACT

**Objectives:** To describe the service experience of the Bone Marrow Transplantation University Hospital of Curitiba in the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Methodology:** A retrospective study of 14 patients diagnosed with PNH in the period 1988 to 2005.

**Results:** Median age 28 years, median interval between diagnosis and BMT of 29.5 months. 5-year overall survival was 70%. **Conclusion:**

The last decades witnessed great advances in the diagnosis to and management of PNH, the elucidation of the pathophysiological mechanisms, besides the improvement of patient support transplanted bone marrow provided an increase in patient survival. This study showed no differences in clinical characteristics and survival when compared to other international institutions. This is one of the largest series described this scenario in a single center. Although these results were considered very good, Several obstacles still need to be transposed.

**Keywords:** paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH, bone marrow transplantation.

## **1. INTRODUÇÃO**

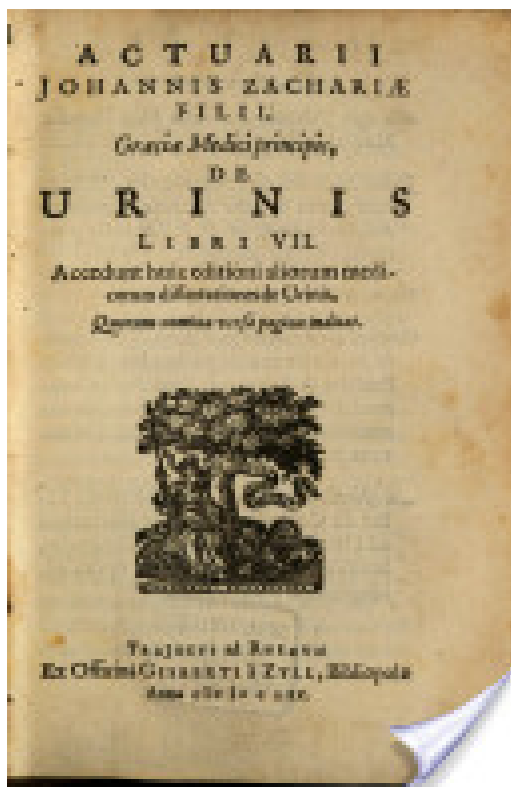
A avaliação dos pacientes com diagnóstico de HPN tratados com transplante de medula óssea no Serviço de Transplante de Medula óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná torna-se importante para definirmos o perfil clínico e a sobrevida global, além das complicações relacionadas aos TMO realizados e compararmos nossos resultados aos dados disponíveis em outros centros transplantadores, sobretudo americanos e europeus. A experiência acumulada em diversos centros ao redor do mundo é importante numa situação de doença rara e muitas vezes sub-diagnosticada. No Brasil, identifica população específica, podendo-se assim conhecer o resultado desta modalidade terapêutica em um centro de referencia em TMO do Brasil.

Os principais fatores na escolha do tema foram a relevância científica e a escassa quantidade de informações recentes descrevendo tal tratamento. Além disso, o desenvolvimento recente de anticorpo monoclonal específico (Eculizumab) para tratamento de pacientes com HPN e hemólise grave, tem modificado a indicação para o TMO.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 História e Origem

A primeira descrição conhecida de hemoglobinúria aparece num texto escrito no século XIII – *De Urinis* – de Johanes Zacharias (Actuarius) médico da corte de Bizâncio (Constantinopla) (quadro 1). Zacharias foi a primeira pessoa a utilizar um cilindro graduado para urinálise; provavelmente ele havia registrado uma rara complicação relacionada à malária naquela descrição (15).



**Quadro 01.** Capa do livro *De Urinis*

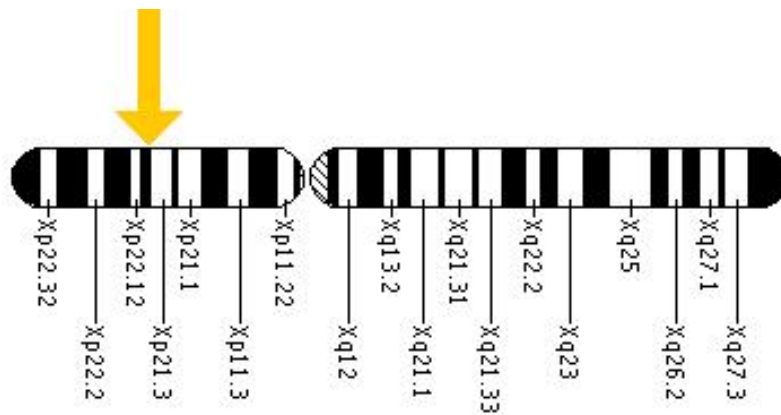
Hemoglobinúria Paroxística Noturna é uma doença clonal adquirida da célula tronco hematopoiética caracterizada por hemólise intravascular, frequentemente associada a exacerbações noturnas recorrentes, pancitopenia e trombose venosa com predileção por trombose de veias hepáticas e intra-abdominais, sua principal causa de morte (1,2,3). Alguns casos compatíveis com HPN já haviam sido relatados em 1793, porém a descrição da doença como síndrome clínica foi realizada apenas em 1882 por Paul Strubing (4,5). Também já foi denominada síndrome de Marchiafava-Micheli. O termo hemoglobinúria paroxística noturna refere-se à descrição da destruição de hemácias com liberação de hemoglobina na urina, notada principalmente por coloração amarronada na primeira urina da manhã (5,6). Entretanto, sabe-se atualmente que hemoglobinúria está presente em somente 26% dos pacientes com esta doença (7).

## **2.2 Epidemiologia**

A estimativa da incidência nos Estados Unidos é de 1-5 casos a cada milhão de habitantes. Acredita-se também que seja mais freqüente no sul da Ásia e entre a população oriental. Não foram identificados fatores de risco para sua ocorrência ou associação com outras anemias hemolíticas. A maioria dos pacientes desenvolve os sintomas iniciais entre a quarta e quinta décadas de vida (8). Não existe uma estimativa da incidência da HPN no Brasil.

## **2.3 Fisiopatologia**

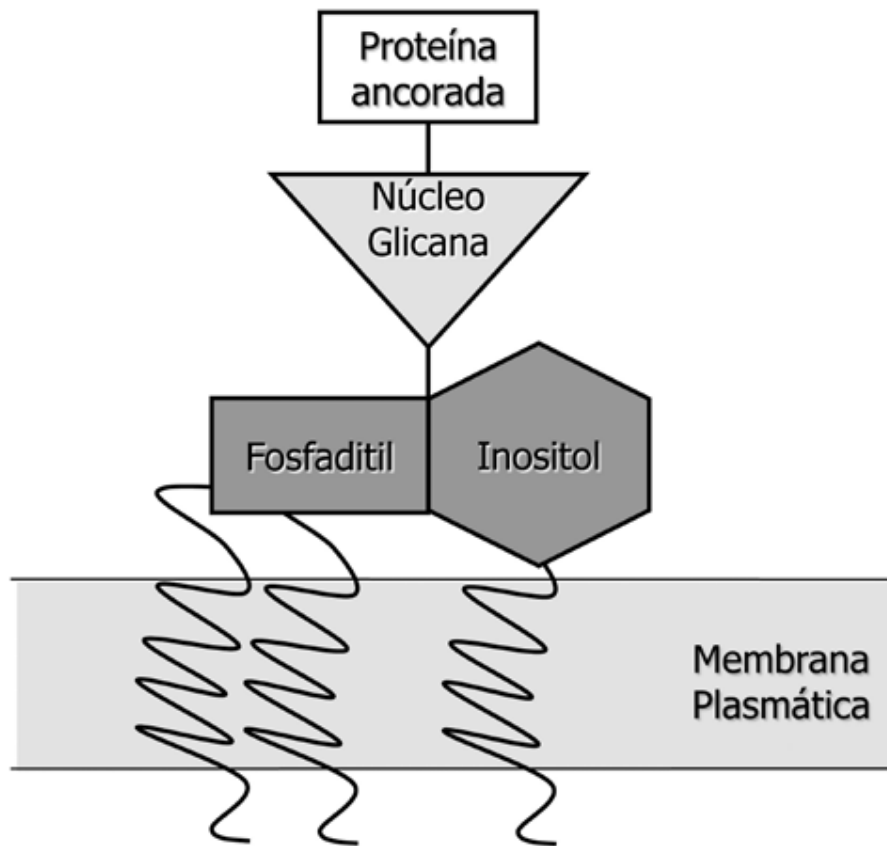
HPN é causada pela expansão clonal não maligna de uma ou várias células-tronco hematopoéticas que adquiriram mutação(ões) somática(s) do gene da proteína fosfatidil inositol glicana A (phosphatidyl inositol glycan-class A, PIG-A) que encontra-se localizado no cromossomo X (figura 1) (9,10).



**Figura 01.** Localização do gene PIG-A no cromossomo X

PIG-A é essencial para a formação de âncoras de glicosil fosfatidil inositol, pelas quais, muitas das proteínas de superfície ligam-se à membrana celular das hemácias. Várias destas proteínas de superfície são importantes reguladoras do sistema complemento e sua deficiência é a causa da hemólise intravascular em pacientes com HPN. A falha em sintetizar uma molécula madura de GPI gera ausência de todas as proteínas de superfície normalmente ancoradas por ela. (5,11)

Dentre as proteínas ancoradas pela GPI estão o CD 55 (12) e o CD 59 (13) que controla a ativação da cascata do complemento. Portanto, a hemólise da HPN resulta do aumento da susceptibilidade de hemácias clonais ao complemento pela redução ou ausência completa das proteínas regulatórias na superfície celular (14).

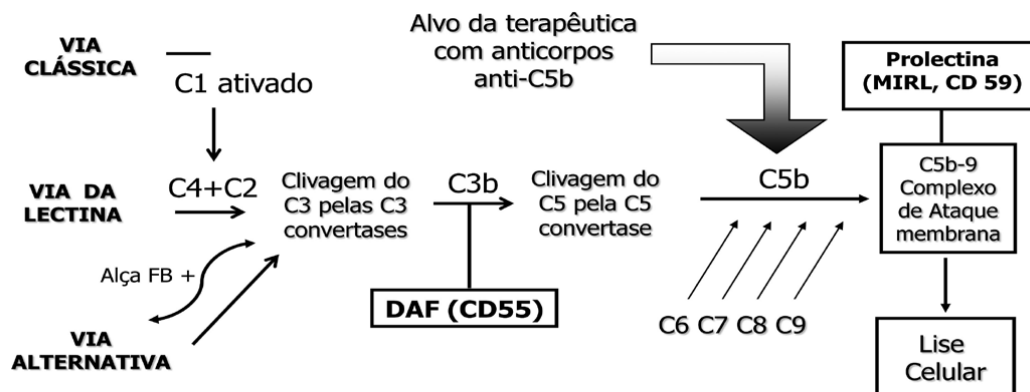


**Figura 02.** Esquema da estrutura da âncora glicosil fosfatidil inositol (adaptado de Arruda - 5, 11)

O sistema complemento é formado por mais de 20 proteínas séricas que interagem em seqüências de ativação enzimática e ligação à membrana celular, formando vários produtos com características imunoprotetoras, imunorregulatórias, pró-inflamatórias e citolíticas. Para sua ativação estão envolvidas três vias, a saber: via clássica, a via da lecitina e a via alternativa. Células HPN são vulneráveis à ativação do complemento por qualquer uma das três vias. O CD 55 (decay accelerating factor) inibe o complemento no nível C3. Já o CD 59 (membrane inhibitor of reactive lysis) é uma glicoproteína que interage diretamente com o complexo de ataque à membrana (também



chamado de complexo de complemento terminal C5b-9) para impedir a formação do poro lítico na superfície celular a partir da agregação de C9 (5,11).



**Figura 03.** Cascata do complemento (Adaptado Arruda et al, 5)

## 2.4 DIAGNÓSTICO

O primeiro teste diagnóstico para a doença – teste de Ham – foi desenvolvido em Boston em 1938 por Thomas Hale Ham. O teste consiste em pesquisar hemólise em hemácias incubadas com plasma levemente ácido (pH 6,2) (16). Outro teste também de fácil realização é o teste de lise por sacarose. O acréscimo de sacarose ao soro normal ativa a via clássica do complemento, ocorrendo hemólise das hemácias sensíveis. (17). O teste de Ham e o teste de sacarose foram utilizados por muito tempo como ferramenta laboratorial para o diagnóstico de HPN. Atualmente a investigação e o diagnóstico laboratorial da HPN são temas de grande interesse. A citometria de fluxo é o exame de escolha para o diagnóstico da HPN. Duas sociedades internacionais independentes – Sociedade Internacional de Citometria Clínica e o Grupo Internacional de Interesse em HPN – recentemente publicaram suas recomendações para quais pacientes é indicada a investigação e, de que maneira, a citometria de fluxo deve ser realizada (18,19). A maioria dos autores

recomenda investigação para pacientes com hemoglobinúria, pacientes com anemia hemolítica com teste de Coombs negativo, pacientes com sinais de hemólise e desidrogenase láctica (LDH) aumentada (sobretudo naqueles com deficiência de ferro), pacientes com trombose venosa profunda acometendo locais incomuns (síndrome de Budd-Chiari, trombose de veia porta ou mesentérica), trombose de veias ou seios venosos cerebrais, pacientes com anemia aplástica severa (ao diagnóstico e anualmente na ausência de evidência de hemólise intra-vascular), pacientes com síndrome mielodisplásica-anemia refratária na ausência de hemólise intravascular, pacientes com citopenias inexplicadas e trombose venosa ou arterial inexplicadas (18,19).

A análise por citometria de fluxo usando anticorpos dirigidos contra proteínas ancoradas pela PIG-A é o mais sensível e informativo ensaio laboratorial disponível para o diagnóstico de HPN. Para análise inicial, a quantificação de pelo menos duas proteínas ancoradas pelo GPI é recomendada para excluir a possibilidade de que um processo clínico seja uma consequência de um defeito adquirido e isolado por deficiência de uma única proteína ancorada pelo GPI (20,21).

## **2.5 Aspectos Clínicos**

HPN é uma doença incomum e é caracterizada por falência de medula óssea, trombose e hemólise intravascular. A ativa hemólise intravascular comumente leva a hemoglobinúria, disfagia, dor abdominal recorrente, letargia e disfunção erétil. HPN é uma condição crônica, frequentemente afetando indivíduos jovens que podem persistir por muitos anos com sintomas e problemas de difícil manejo clínico. Baseados em dois estudos históricos a sobrevida mediana observada

em pacientes com HPN foi de 10-15 anos após o diagnóstico (8,22). Parece haver uma melhora no prognóstico dos pacientes com recentes ferramentas de apoio terapêutico moderno como transfusão de plaquetas, terapia imunossupressora para pacientes com falência de medula óssea e anticoagulação plena em pacientes selecionados (23).

Os sintomas relacionados à hemólise e/ou hematopoese insuficiente interferem na evolução clínica. Eventos hemolíticos agudos e imprevisíveis têm impacto negativo na qualidade de vida desta população. Anemia e dependência transfusional são constantes.

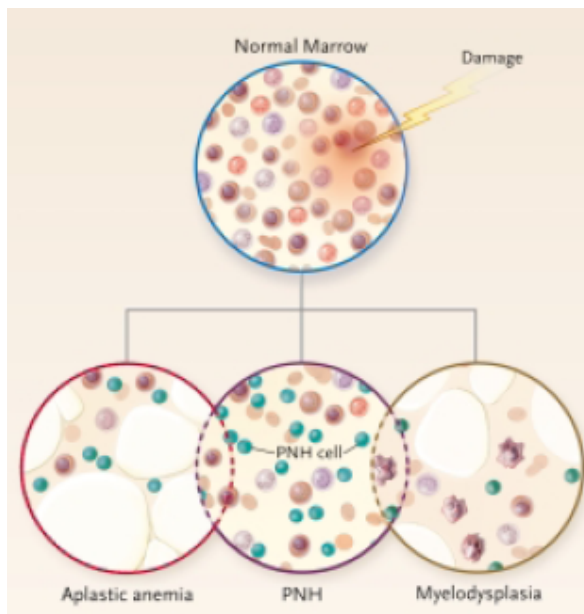
Hemólise nos pacientes com HPN pode ser quantificada pela medida da LDH, que encontra-se frequentemente elevada e pode ultrapassar 20 vezes o valor superior da normalidade nos episódios de hemólise intensa (24,25,26,27).

Uma grave complicação da HPN é a trombose venosa, que pode ocorrer em até 50% dos pacientes com doença hemolítica e é a causa de morte em pelo menos um terço dos pacientes (8,22). Existe uma predileção por veias intra-abdominais e cerebrais. Parece haver um maior risco de trombose em pacientes afro-americanos e latino-americanos (28).

A causa da tendência à trombose não está completamente compreendida e pode ser multifatorial. Existe uma hipótese de que hemoglobina livre no plasma pode contribuir para ativação plaquetária e trombose. Hemoglobina livre no plasma consome óxido nítrico. Redução no óxido nítrico causa distonias que podem levar a uma vasoconstrição e uma conseqüente disfunção erétil e

contrações no trato gastro-intestinal relacionadas à disfagia e dor abdominal (29,30,31).

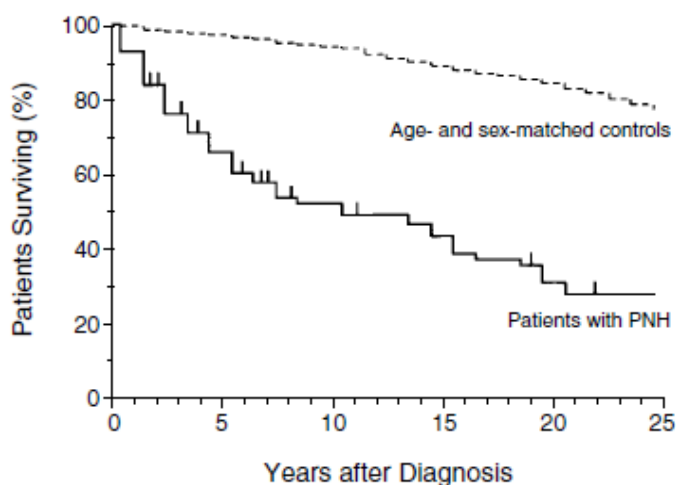
Uma associação íntima entre HPN e Anemia Aplástica Severa (AAS) está bem reconhecida: pacientes com AAS frequentemente apresentam evidência laboratorial de HPN. A proporção de pacientes com AAS e que apresentam alteração clonal relacionada a HPN varia de 13 a 57% em diferentes estudos (32,33,34). Ao redor de 15% dos pacientes com HPN evoluem com a perda das células progenitoras hematopoiéticas e hipoplasia da medula óssea (34). HPN está também associada com leucemias agudas, síndromes mielodisplásicas e síndromes mieloproliferativas. Nestes casos o prognóstico é mais dependente da doença de base do que da HPN típica. Um mecanismo desconhecido, provavelmente uma toxina ambiental, danifica a célula-tronco hematopoiética e induz uma mutação do gene PIG-A. O tipo e a extensão da lesão determinam se ocorrerá evolução para AAS, HPN ou SMD (Figura 4) (15).



**Figura 4** - Relação entre HPN e AAS SMD.

A evolução clínica da HPN é altamente variável, mas geralmente crônica. Ao diagnóstico a maioria dos pacientes (90%) apresenta anormalidades no exame do esfregaço do sangue periférico. Complicações trombóticas, progressão para pancitopenia, síndromes mielodisplásicas e leucemia aguda ocorrem respectivamente em 30%,15%,5% e 1% dos pacientes dentro dos primeiros 8 anos do diagnóstico .Outras complicações são frequentemente associadas à terapia (hemocromatose, hepatite viral) (8).

A sobrevida em 10 anos, relatada por vários autores, varia de 50% a 71% (35,22,36). Entretanto, um dado muito expressivo é que a mortalidade em 5 anos é de 35% (22). Os fatores relacionados a uma curta sobrevida são: trombose como complicação, desenvolvimento de pancitopenia, evolução para SMD ou leucemia aguda, idade superior a 55 anos, necessidade de terapia adicional e trombocitopenia ao diagnóstico (8). Trombose, infecções e hemorragia são as principais causas de mortalidade em pacientes com HPN. Existem diferentes abordagens terapêuticas para HPN: corticoesteróides podem ter benefícios em alguns pacientes, mas tem substanciais efeitos adversos, andrógenos por vezes podem melhorar a função medular, porém muitas vezes tem seu uso interrompido por importantes efeitos colaterais. Transfusões de hemácias e plaquetas, agentes imunossupressores (globulina anti-timocítica e ciclosporina) e anticoagulantes também podem ser utilizados, porém nenhuma dessas terapias apresenta perspectiva de cura da doença.



**Figura 05** - Sobrevida atuarial, do momento do diagnóstico em 80 pacientes com HPN (Adaptado de Hillmen et al 22).

Recentemente, o desenvolvimento e a utilização de anticorpo monoclonal eculizumab demonstrou alta eficácia no tratamento de pacientes com HPN e hemólise, além de expressiva redução do número de trombooses venosas nestes pacientes (43,44). Não existe até o momento estudo que demonstre melhora nas contagens leucocitária e plaquetária com o uso exclusivo de eculizumab.

Por outro lado, o transplante de medula óssea tem sido associado à cura em alguns pacientes submetidos a tal procedimento (37,38,39,40,41,42). Poucos trabalhos têm sido publicados relacionando a taxa de resposta e a sobrevida de pacientes submetidos ao TMO. No banco de dados LILACS, por exemplo, poucas são as referências para esta situação.

### **3. OBJETIVOS**

Avaliar a eficácia e as complicações relacionadas ao TMO alogênico em pacientes portadores HPN, com ênfase nas características clínicas e laboratoriais desta população,

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Delineamento**

Estudo transversal, descritivo, observacional e retrospectivo

### **4.2 Casuística**

A população para o presente estudo foi composta por pacientes com diagnóstico por teste de Ham, teste de sacarose ou por citometria de fluxo de HPN, submetidos ao TMO no período de março de 1988 a fevereiro de 2005 no serviço de TMO do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

A amostra foi selecionada pelo próprio pesquisador através da identificação no banco de dados e no serviço de registro de transplantes de medula óssea.

### **4.3 Dados clínicos, laboratoriais e seguimento**

Entre março de 1988 e fevereiro de 2005, 14 pacientes (9 homens e 5 mulheres) com idade mediana de 28 anos (variando de 14 a 42 anos) com HPN foram transplantados com doador HLA totalmente compatível. A mediana de tempo entre o diagnóstico e o TMO foi de 29,5 meses. Todos os pacientes transplantados eram dependentes de transfusão de hemocomponentes e 11 receberam tratamento prévio ao TMO: esteróides associados ou não a ciclosporina, ciclosporina isolada ou oximetolona.

A indicação do transplante foi aplasia de medula óssea / pancitopenia em 12 pacientes, anemia e plaquetopenia de risco (< 20.000) em 1 paciente e trombose em 1 caso, não havendo indicação por evolução da doença para



mielodisplasia ou leucemia aguda. Doze transplantes foram realizados com doador irmão e 2 transplantes com doador não-irmão. Não houve nenhum caso da realização de 2 transplantes em um único paciente. Em 13 transplantes a origem da célula tronco foi a medula óssea e em 1 caso célula tronco hematopoiética de sangue periférico.

No momento do transplante a contagem mediana de neutrófilos foi de  $560 \times 10^3$  u/L e a contagem mediana de plaquetas foi de  $29.000 \times 10^3$  u/L. (tabela 1).

**Tabela 01.** Características dos pacientes

Paciente	Sexo	Idade em anos	Número De transfusões Prévias	Terapia Anterior	Neutrófilos na internação	Plaquetas na internação
1	M	37	16	Não	180	10.000
2	M	17	15	Não	280	17.000
3	F	26	8	CTC	3290	437.000
4	M	24	51	CTC OXM G-CSF IG	767	61.000
5	F	16	20	CTC	490	68.000
6	F	22	25	CTC OXM	52	13.000
7	M	36	35	CTC CSA	1998	3.000
8	M	42	10	Não	858	22.000
9	M	29	150	CTC	570	10.000
10	M	39	200	CTC	2968	50.000
11	F	14	25	CTC	224	67.000
12	M	37	12	CTC	761	207.000
13	F	30	101	CTC CSA	680	36.000
14	M	27	110	ATG CSA	1794	30.000

CTC: Corticóide, CSA:ciclosporina, OXM:oximetolona, ATG:globulina anti-timocítica, IG:imunoglobulina humana, G-CSF:fator estimulante de colônias granulocíticas.

O condicionamento foi realizado com bussulfan 12 mg / kg e ciclofosfamida 120 mg/kg em 10 casos, bussulfan 16 mg/kg e ciclofosfamida 120 mg/kg em 1 caso, bussulfan 8 mg/kg e fludarabina 25 mg/m<sup>2</sup> por 5 dias em 1 caso, ciclofosfamida 120 mg/kg e timoglobulina 4 mg/kg em 1 caso e ciclofosfamida 200 mg/kg isolada em 1 caso. A diversidade do regime de condicionamento deveu-se basicamente à heterogeneidade da indicação e do momento do TMO. Como a maior parte das indicações ao transplante foi por pancitopenia, o regime mieloablativo com bussulfan e ciclofosfamida foi predominante.

A mediana do número de células nucleadas infundidas foi de  $2,70 \times 10^8/\text{kg}$ .

A imunossupressão foi realizada com metotrexato e ciclosporina em 11 pacientes, ciclosporina e corticóide em 1 paciente, metotrexato, ciclosporina e corticóide em 1 paciente e metotrexato, ciclosporina e micofenolato mofetil em 1 paciente. (tabela 2)

**Tabela 02.** Características dos transplantes.

Sexo	Idade	Condicionamento	Profilaxia DECH	NCI X 10 <sup>8</sup> /Kg	Pega Neutrofílica (Dia)
M	37	BU 16 / CY 120	CSA/CTC	3,29	+16
M	17	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	1,72	+25
F	26	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	2,40	+16
M	24	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	3,90	+21
F	16	BU 12 / CY 120	MTX/CSA/MMF	2,53	+20
F	22	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	2,80	+23
M	36	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	1,90	Óbito +10
M	42	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	2,12	+19
M	29	CY 200	MTX/CSA	2,70	+19
M	39	BU 12 / CY 120	MTX/CSA	2,78	Óbito +11
F	14	BU 12 / CY 120	MTX/CSA/CTC	3,92	+20
M	37	BU 8 / FLU 125	MTX/CSA	1,23	+16
F	30	CY 120 / FLU 125 / ATG 4	MTX/CSA	3,48	+24
M	27	BU 8 / FLU 125	CSA/MTX	4,56	+14

**Tabela 02.** Dados do transplante de medula óssea.

BU: bussulfano; CY:ciclofosfamida; FLU:fludarabina; ATG:globulina anti-timocítica

NCI: número de células nucleadas totais

DECH: doença do enxerto contra hospedeiro

#### **4.4 Análise estatística**

A análise estatística para avaliação da curva de sobrevida foi realizada pelo método de Kaplan-Meier.

#### **4.5 Considerações éticas**

Este estudo foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná cadastrado sob o registro CEP/HC 2593.200/2011-08. O TCLE ( termo de consentimento livre e esclarecido) foi dispensado de aplicação aos pacientes pelo caráter retrospectivo, pelo amplo intervalo de tempo referente à coleta de dados e pela utilização exclusiva da revisão dos dados para a confecção deste trabalho.

## **5. RESULTADOS**

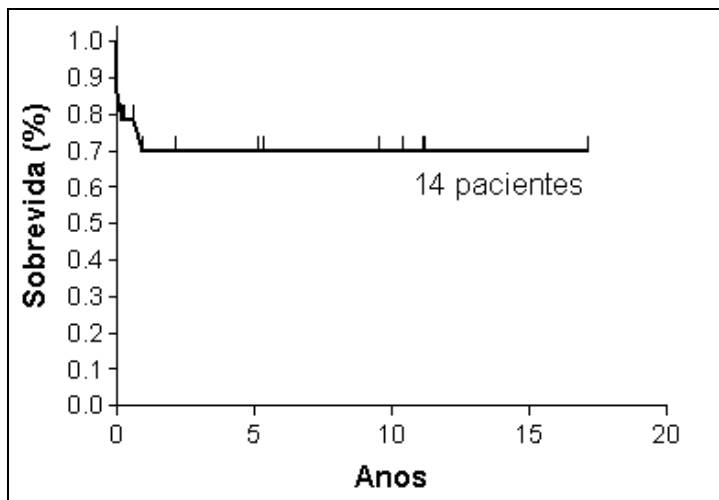
### **5.1 Pega do enxerto.**

Do total de 14 pacientes, 12 alcançaram pega completa e 2 pacientes evoluíram com óbito nos dias +10 e +11, relacionados, portanto ao procedimento. O tempo mediano para atingir uma contagem neutrofílica de 500 foi de 19 dias. Houve 4 pacientes que apresentaram Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) aguda de graus I, III, III e IV. Em relação à DECH Crônica houve, também, 4 casos sendo que 2 deles foram classificados como limitados e 2 classificados como extensos.

Um paciente foi a óbito por DECH aguda seguida de sepsis no dia + 70, e outro foi a óbito por DECH crônica associada à infecção herpética disseminada em trato gastrointestinal no dia + 330. Ambos tiveram correlação com tratamento imunossupressor da DECH, além do próprio processo de interferência do status de imunidade pós DECH.

## 5.2 Sobrevida.

A sobrevida mediana dos 14 pacientes que foram acompanhados para avaliação de seguimento pós TMO foi de 1691 dias, variando de 189 até 5998 dias, conferindo sobrevida mediana estimada de 70% anos em 5 anos. (Gráfico 1)



**Gráfico 1.** Sobrevida mediana estimada pelo método de Kaplan Meier

## 5.3 Complicações não-infecciosas relacionadas ao TMO

Não houve nenhum caso de doença veno-oclusiva hepática, síndrome hemolítico-urêmica ou cistite hemorrágica descrito nesta série.

## 5.4 Infecções bacterianas

Complicações com infecções bacterianas são frequentemente vistas durante o internamento para o TMO. Nesta série de pacientes, as infecções relacionadas foram: 1 bacteremia por *Serratia marcescens* tratada com antibioticoterapia e resolvida, 1 bacteremia relaciona a *Enterobacter sp* e resolvida com antibioticoterapia, 1 episódio de sepse relacionada a *Escherichia*

*coli* culminando com óbito no dia +10 e 1 caso de sepse relacionada a *Staphylococcus aureus* metilino-resistente culminando também com óbito em 1 paciente ainda no dia +11pós TMO.

### **5.5 Infecções virais**

Um paciente apresentou marcador positivo para hepatite por vírus C (anti-HCV reagente) pós TMO, 1 paciente apresentou infecção por Herpes zoster extensa em tórax e dorso tratada com aciclovir e, 4 outros pacientes apresentaram antigenemia positiva para *Citomegalovírus* (CMV) no pós transplante (nos dias + 30, + 44,+ 52 e +64) sendo realizada terapia pre-emptiva com ganciclovir e com recuperação clínica completa.

### **5.6 Infecções fúngicas.**

Houve um caso de Candidíase oral com tratamento efetivo com fluconazol em doses terapêuticas. Não houve, nesta série, documentação ou suspeita clínica de infecções por *Aspergillus sp*.



## 6. DISCUSSÃO

Existem vários trabalhos na literatura médica sobre transplante de medula óssea em pacientes com HPN. Entretanto, a grande maioria deles contém um pequeno número de pacientes, e muitas das séries apresentando menos de 10 pacientes analisados.

Este trabalho apresenta a experiência de centro único, porém com um número de pacientes bastante considerável e maior que em muitas das séries publicadas até aqui. Este estudo confirma que Transplante de Medula Óssea alogênico pode produzir longa sobrevida livre de doença e sobrevida global em pacientes com HPN.

Em 10 de 14 pacientes o transplante de medula óssea foi eficaz como terapia e nestes pacientes uma longa sobrevida foi assegurada. Em nosso grupo os resultados são comparativamente semelhantes a outras séries previamente publicadas. Não foram detectados, dos fatores analisados, variáveis significativamente estatísticas relacionadas à melhor sobrevida.

O número de transplantes de medula óssea alogênicos para HPN publicados é reduzido, com muitas séries pequenas e heterogêneas. A análise dessas pequenas séries tem demonstrado uma sobrevida livre de eventos ao redor de 70%. Pode existir viés na publicação destes casos, desde que existe uma tendência da publicação dos casos com melhores resultados.

Em estudo anterior publicado pelo IBMTR a sobrevida de pacientes submetidos ao TMO com doador aparentado compatível foi de 56% e somente um de sete pacientes transplantados com doador alternativo sobreviveu. Nesse

estudo a mais comum causa de falha de tratamento foi falha do enxerto, a qual contribuiu significativamente com diminuição da sobrevida. Entre os pacientes com pega sustentada a sobrevida global foi de 60% .Ainda nessa publicação do IBMTR muitas variáveis foram analisadas para a busca de associação com os resultados do transplante e incluíam idade, intervalo do diagnóstico ao TMO, celularidade da medula óssea, número de células infundidas, número de transfusões prévias ao TMO, regime de condicionamento, soro positividade para CMV e ano do transplante. Nenhuma delas foi fator capaz de prever sobrevida com significância estatística (41)

Por outro lado, a análise dos 220 pacientes com HPN acompanhados pela sociedade francesa de hematologia representa a maior análise de história natural dessa doença. Embora o estudo francês tenha evidenciado uma sobrevida mediana de 12 anos, o mesmo estudo identificou fatores de risco associados com uma pior sobrevida, a saber : 1º ocorrência de trombose, independentemente da localização (RR=10,2); 2º progressão para pancitopenia (RR=5,5); 3º transformação para mielodisplasia ou leucemia aguda (RR=19,1); 4º trombocitopenia ao diagnóstico (RR=2,2) (8).

Em recente artigo de revisão, Matos-Fernandez e colaboradores resumizam as principais publicações nesta área. São descritos 7 artigos com transplantes de medula óssea com doadores aparentados com a amostra descrita de 3,4,7,9,16 e 57 pacientes (maior série descrita - CIBMTR). Nesta publicação são descritos transplantes realizados de 1971 até 2001. Os resultados são bastante heterogêneos – sobrevida global muito variável - e a população bastante limitada para análises estatísticas precisas (54).

Outro estudo descritivo e mais recente é a publicação da experiência do grupo italiano com 26 pacientes. Nesta análise, 23 pacientes tinham compatibilidade total (22 aparentados e 1 não aparentado) e 3 tinham compatibilidade parcial (2 aparentados e 1 não aparentado). A incidência cumulativa de falha de pega foi 8%. A mortalidade relacionada ao transplante foi de 42%. Presença de DECH crônico em 50% dos pacientes. A probabilidade de sobrevida livre de doença estimada pelo método da Kaplan-Meier foi de 57% em 10 anos.

HPN pode ser curada apenas com TMO, em cerca de 50% dos casos, porém existe uma considerável mortalidade relacionada ao procedimento e a melhor indicação para o TMO permanece desconhecida. Para quem e em quais condições o TMO trará os melhores resultados? A decisão da realização do transplante necessita de análise criteriosa do prognóstico do paciente e do cenário clínico naquele momento específico da patologia e de seu comportamento biológico. Também surgem novas questões após esta investigação: Como fica o clone HPN após o TMO? Seria totalmente erradicado? Permaneceria uma pequena parcela não detectada imediatamente pós TMO e que, com o passar do tempo, poderia novamente emergir? Um clone residual persistente terá repercussão clínica? A programação de estudo de pesquisa de células clonais/HPN pós TMO por citometria de fluxo é novo projeto.

Neste estudo demonstramos ser possível a opção do TMO para pacientes com HPN com doador aparentado compatível e com doença grave ao momento do TMO. É pertinente e relevante ressaltar que este estudo é um

dos poucos relatos em que a população estudada não é pertencente a países da América do Norte ou da Europa, demonstrando os bons resultados também em uma sub-população sul americana.

## **7. CONCLUSÕES**

Hemoglobinúria paroxística noturna é doença clonal, rara e de difícil tratamento na prática clínica com sobrevida relativamente longa se fatores de mau prognóstico não estiverem presentes. O transplante de medula óssea alogênico com doador totalmente compatível pode erradicar clones de HPN e pode curar a doença. Entretanto, mais estudos são necessários com um número maior de pacientes para a avaliação precisa de sua indicação bem como da utilização deste recurso terapêutico, nesta patologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rotoli B, Luzzato L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Semin Hematol* 1989;26:201-7.
2. Mathieu D, Rahmouni A, Villeneuve P, et al. Impact of magnetic resonance imaging on the diagnosis of abdominal complications of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1995;85,3283-8.
3. Ware RE, Hall SE, Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence. *N Eng J Med* 1995; 325,991-6.
4. Crosby WH. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a classic description by Paul Strubling in 1882, and a bibliography of the disease. *Blood* 1951; 6,270-84.
5. Arruda MMA, Rodrigues CA, Yamamoto M et al. Hemoglobinuria Paroxística Noturna: da fisiopatologia ao tratamento. *Ver Assoc Med Bras* 2010.; 56,214-21.
6. Crosby WH. Paroxysmal nocturnal hemoglobinúria: relation of the clinical manifestations to underlying pathogenic mechanisms. *Bloob* 1953; 8, 769-812.
7. Parker C, Omine M, Richards S et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005;106,3699-7009.
8. Socie G, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet* 1996; 348,573-77.
9. Bessler M, Hiken J. The pathophysiology of disease in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 2008 104-110.

10. Brodsky RA, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: stem cells and clonality. Hematology Am Soc Educ Program 2008;2008:111-15
11. Brodsky RA. Advances in the diagnosis and therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinúria. Blood Rev 2008; 22,65-74.
12. Sugarman J, Devine DV, Rosse WF. Structural and functional differences between decay-accelerating factor acetylcholinesterase. Blood 1986,68,680-4.
13. Shichishima T, Terawasa T, Hashimoto C, et al. Heterogeneous expression of decay accelerating factor and CD59/ membrane attack complex inhibition factor on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) erythrocytes. Br J Haematol 1991;78,545-50.
14. Smith LJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Clin LabSci 2004;17,172-7.
15. Scharz RS. Black mornings, Yellow sunsets – a day with paroxysmal nocturnal hemoglobinúria. New Engl J Med 2004; 350,537-8.
16. Ham TH, Dingle JH. Studies on destruction of red blood cells in chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: certain immunological aspects of the hemolytic mechanism with special reference to serum complement. J Clin Invest 1939;18,657-72.
17. Hartmann RC, Jenkins DE. The “sugar-water” test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Eng J Med 1966;275,155-7.
18. Borowitz MJ, Craig FE, DiGiuseppe JA et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Clin Cytometry 2010; 78, 211-230.

19. Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005; 106, 3699-3709.
20. Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T, et al. Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Eng J Med* 1990;323, 1184-1189.
21. Daniels G, Cromer-related antigens-blood group determinants on decay-accelerating factor. *Vox Sang* 1989;56,205-211.
22. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Eng J Med* 1995;333,1253-1258.
23. Hill A, Richards J, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2007;137,181-92.
24. Tabbara IA. Hemolytic anemias: Diagnosis and management. *Medical Clinics of North America*;76,626-628.
25. Paquette RL, Yoshimura R, Veiseth C, et al. Clinical characteristics predict response to antithymocyte globulin in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1997;96,92-97.
26. Rosti V. The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2000;85,82-87.
27. Hillmen P, Hall C, Marsh JC, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Eng J Med* 2004;350,552-559



28. Araten DJ, Thaler HT, Luzzatto L. High incidence of thrombosis in African-American and Latin-American patients with paroxysmal nocturnal . Thrombosis and Haemostasis 2005;93,88-91.
29. Rother R, Bell L, Hillmen P, et al. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. JAMA 2005;293,1653-1662.
30. Hill A, Rother RP, Wang X, et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol 2010;149,414-25.
31. Weitz IC. Thrombosis in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria – insights into the role of complement in thrombosis. Thromb Res 2010;125,S106-07.
32. Parker CJ. Molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Stem Cells 1996;14,396-411.
33. Rosse WF, Ware RE. The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1995; 86,3277-86.
34. Schrezenmeier H, Hertenstein B, Wagner B, et al. A pathogenic link between aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is suggested by a high frequency of aplastic anemia patients with a deficiency of phosphatidylinositol glycan anchored proteins. Exp Hematol 1995;23,81-87.
35. Dacie JV, Lewis M. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: clinical manifestation, hematology and nature of disease. Series Haematol 1972;3,3-23.

36. Fijioaka S, Takayoshi T. Prognostic features of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan. *Acta Hematol Japon* 1989; 52, 1386-94.
37. Szer J, Deeg HJ, Witherspoon RP, et al. Long-term survival after marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with aplastic anemia. *Ann Intern Med* 1984; 101, 193-95.
38. Antin JH, Ginsburg D, Smith BR, et al. Bone marrow transplantation for hemoglobinuria paroxysmal nocturnal: eradication of the PNH clone and documentation of complete lymphohematopoietic engraftment. *Blood* 1985;66,1247-50.
39. Kolb HJ, Holler E, Bender-Gotze W, et al. Myeloablative conditioning for marrow transplantation in myelodysplastic syndromes and paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Bone Marrow Transplant* 1989;4,29-34.
40. Kawahara K, Witherspoon SP, Storb R. Marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1992;39,283-8.
41. Saso R, Marsh J, Cevreska L, et al. Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1999;104,392-96.
42. Bemba M, Guardiola P, Garderet L, et al. Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Br J Haematol* 1999;105,366-68.
43. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal Nocturnal hemoglobinuria. Hillmem P, Young NS, Schubert J, et al. *New Engl J Med* 2006;355,1233-43.

44. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, et al. *Blood* 2008;111,1840-7.
45. Matos-Fernandez NA, Mourad Y R, Caceres W, et al. Current status of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15, 656-661.
46. Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: long-term results of a retrospective study on behalf of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Haematologica* 2010; 95,983-8.